

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1934

THÈSE

N° **691**

POUR LE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Mention MÉDECINE)

PAR

Tamara MELIK-OGANDJANOFF

Née le 7 octobre 1903 à Kharkoff (Russie)

RECHERCHES

SUR

L'ÉVALUATION DE LA MASSE DU SANG

PAR L'INJECTION INTRA-VEINEUSE

DE ROUGE CONGO

(MÉTHODE DE GRIESBACH)

CONTRIBUTION EXPÉRIMENTALE. ÉTUDE CRITIQUE

(Travail de la Clinique médicale de l'Hôtel-Dieu)

Président : M. CARNOT, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE. 2

1934

109

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1934

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Mention MÉDECINE)

PAR

Tamara MELIK-OGANDJANOFF

Née le 7 octobre 1903 à Kharkoff (Russie)

RECHERCHES

SUR

L'ÉVALUATION DE LA MASSE DU SANG

PAR L'INJECTION INTRA-VEINEUSE

DE ROUGE CONGO

(MÉTHODE DE GRIESBACH)

CONTRIBUTION EXPÉRIMENTALE. ÉTUDE CRITIQUE

(Travail de la Clinique médicale de l'Hôtel-Dieu)

Président : M. CARNOT, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE. 2

1934

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie	ROUVIERE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale	PROUST.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	Robert DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	CLERC.
Pathologie chirurgicale	CHEVASSU.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène et Médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BAITHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL-LAVASTINE.
Pathologie expérimentale et comparée	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Maurice VILLARET.
Clinique médicale	ACHARD.
	BEZANÇON.
	CARNOT.
	Marcel LABBÉ
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
	CUNÉO.
Clinique chirurgicale	GOSSET.
	GRÉGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	MARION.
	BRINDEAU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la tuberculose	Léon BERNARD
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
	HOVELACQUE.
Professeurs sans chaire	MULON.
	OLIVIER.
	VERNE.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ALAJOUANINE Neurologie et Psychiatrie.
BÉNARD (Henri) . . . Pathologie médicale.
BERNARD (Etienne) . . . Pathologie médicale.
BOULIN. . . . Pathologie médicale.
BROCQ Pathologie chirurgicale.
BULLIARD . . . Histologie.
CATHALA . . . Pathologie médicale.
CHABROL . . . Pathologie médicale.
CHEVALLIER. Pathologie médicale.
DOGNON . . . Physique.
DONZELOT. . . Pathologie médicale.
FEY Urologie.
GALLIARD . . . Parasitologie.
GASTINEL . . . Bactériologie.
GATELLIER . . Pathologie chirurgicale.
De GAUDART D'ALLAINES Pathologie chirurgicale.
GAYET Physiologie.
GIROUD . . . Histologie.
HAGUENAU . . Pathologie médicale.
HALPHEN . . . Oto-rhino-laryngologie.
HAZARD . . . Pharmacologie.
HUGUENIN. . . Anatomie pathologique.
JOANNON . . . Hygiène.
LABBÉ (Henri). Chimie biologique
LACOMME . . . Obstétrique.
LANTUÉJOUL. Obstétrique.
LAROCHÉ(Guy) Pathologie médicale.

MM.

LEMAIRE . . . Pathologie expérimentale.
LEVEUF Pathologie chirurgicale.
Mlle J. LÉVY. Pharmacologie.
LEVY-VALENSI. Neurologie et Psychiatrie.
MOREAU Pathologie médicale.
MOULONGUET. . . Pathologie chirurgicale.
MOUQUIN . . . Pathologie médicale.
OBERLING . . . Anatomie pathologique.
PETIT-DUTAILLIS . . Pathologie chirurgicale.
PIEDELIEVRE Médecine légale.
PORTES Obstétrique.
QUENU Pathologie chirurgicale.
RICHET Physiologie.
SANNIÉ Chimie biologique.
SÈNEQUE. . . . Pathologie chirurgicale.
SÉZARY. . . . Dermatologie et syphiligraphie.
TROISIER. . . Pathologie expérimentale.
TURPIN. . . . Pathologie médicale
VALLERY-RA-DOT (Pasteur). Pathologie médicale.
VELTER Ophtalmologie.
VIGNES. . . . Obstétrique.
WILMOTH . . . Pathologie chirurgicale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

AI. GLAVE . . . Pathologie chirurgicale.
BUSQUET . . . Pharmacologie.
CHAILEY-BERT. . . Physiologie.

MM.

LEROUX . . . Anatomie pathologique.
NEVEU-LEMAIRE. Parasitologie.
ZIMMERN. . . Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE

à titre permanent

MM.

ABRAMI . . .	Clinique médicale.
AUBERTIN . .	Clinique médicale.
BRULE . . .	Clinique médicale.
CHIRAY . . .	Clinique médicale.
DUVOIR . . .	Clinique médicale.
HARVIER . . .	Clinique médicale.
LIAN	Clinique médicale.
BASSET . . .	Clinique chirurgicale.
CADENAT . . .	Clinique chirurgicale.

MM.

HEITZ-BOYER.	Clinique chirurgicale.
MOCQUOT . .	Clinique chirurgicale.
MOURE . . .	Clinique chirurgicale.
SCHWARTZ . .	Clinique chirurgicale.
GUÉNIOT . . .	Clinique obstétricale.
LE LORIER . .	Clinique obstétricale.
LEVY-SOLAL .	Clinique obstétricale.
METZGER . . .	Clinique obstétricale.

V. — CHARGÉS DE COURS

CHAILLEY-BERT, agrégé . .	Éducation physique.
FREY	Stomatologie.
LEDoux-LEBARD	Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE — A MA MÈRE

*Témoignage de ma profonde affection
et de ma reconnaissance infinie.*

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur P. CARNOT

Professeur de Clinique médicale

Médecin de l'Hôtel-Dieu

Membre de l'Académie de Médecine

Témoignage de respectueuse reconnaissance pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant la présidence de cette thèse et pour la bienveillance qu'il m'a montrée en m'accueillant dans son service.

A MON MAITRE

Monsieur le Docteur HENRI BÉNARD

Professeur agrégé à la Faculté de Médecine
Médecin de l'Hôtel-Dieu

*Qui m'a inspiré ce travail et m'a
guidée dans sa réalisation.*

*Je le prie d'accepter ici le témoi-
gnage de mon respectueux dévoue-
ment et de ma très profonde re-
connaissance.*

A Mademoiselle le Docteur M. TISSIER

Chef de Laboratoire à la Faculté

*Qui m'a toujours manifesté la plus
grande bienveillance. En témoi-
gnage de toute ma gratitude.*

A Monsieur J. COURTIAL

Interne des Hôpitaux

*Qui a bien voulu nous aider dans
l'exécution de ce travail.
En remerciement de son aimable col-
laboration.*

A MM. BOUTTIER, AUGIER, DEVAL, SIMONNET,
COQUOIN

A Mademoiselle RATNER

Docteurs en Médecine et Chefs de Laboratoire

A MES MAITRES
DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX DE PARIS

HISTORIQUE

Le problème de la détermination de la masse du sang s'est depuis longtemps posé aux physiologistes et aux médecins.

Sans parler des tentatives de Donatus (1597), de Schenck, de Paulinus, c'est à Harvey (1628) qu'on doit les premières expériences méthodiques sur l'animal. Son procédé consistait à peser la quantité maxima de sang susceptible d'être retirée par saignée et à en rapporter le chiffre au poids total du corps.

Cette méthode peu rigoureuse fut reprise par Moor (1695), puis par Von Haller (1760) qui l'appliqua à un supplicié décapité et ce n'est qu'au milieu du siècle dernier que Weber, Lehmann et surtout Welcker (1854-1858) perfectionnèrent la technique primitive de la saignée simple en faisant suivre celle-ci d'une injection intravasculaire d'eau ou mieux de la fragmentation et du lavage de tous les organes.

Dans le procédé de Welcker, le sang de la saignée est réuni aux eaux de lavage et la concentration du mélange en hémoglobine est comparée à celle d'un échantillon de sang prélevé au début de l'expérience.

Welcker trouva chez le chien une quantité de sang équivalant en moyenne au treizième du poids du corps.

Bischoff (1855) obtint un chiffre comparable chez un supplicié.

Depuis lors, la méthode *directe* a été utilisée à plusieurs reprises au cours de recherches physiologiques, Heidenhain, Ranke, Cohnstein, Zuntz, Plesch et plus récemment Richet, Brodin et Saint-Girons l'ont appliquée en y apportant d'intéressants perfectionnements.

Méthodes indirectes

Tandis que se précisait la méthode directe de Wecker, des procédés *indirects*, basés sur des principes différents, étaient à leur tour mis à l'étude.

Un certain nombre d'expérimentateurs imaginent d'injecter dans le sang circulant une certaine masse de liquide et d'évaluer le degré de la dilution sanguine. D'autres proposent d'introduire dans le courant sanguin une substance étrangère en quantité connue et de mesurer sa concentration dans le milieu sanguin.

Vierordt et Malassez ont recours au premier procédé. Vierordt (1854) pratique une saignée, attend un temps suffisant pour que l'afflux de sérosités interstitielles ait rétabli la masse sanguine primitive et calcule celle-ci par la variation du nombre des hématies au millimètre cube.

Malassez injecte à l'animal du sérum ou du sang d'une richesse en globules différente; dans les deux cas, il applique sa méthode de numération globulaire

et compare le chiffre des hématies avant et après l'injection. Dans d'autres expériences, il injecte au lapin une certaine quantité de sang de poule dont les globules sont facilement reconnaissables à leur noyau et en établit le pourcentage dans le sang de l'animal injecté. Comparée à la méthode directe de la saignée et du lavage, l'injection des globules étrangers donne pour la masse sanguine des valeurs trop élevées ce qu'explique, pour une part, l'intervention de phénomènes d'hémolyse.

C'est un procédé de dilution sanguine qu'utilisèrent Valentin (1846), Blake, de Crinis, Wanner et Piticariu en introduisant dans le courant sanguin une solution saline ou glucosée et en mesurant par différents moyens la variation de la concentration du sang. Mais une grave objection peut être faite à ces techniques tenant à la rapidité d'élimination des substances introduites.

Cette cause d'erreur pourrait être toutefois évitée en remplaçant les solutions cristalloïdes par des solutions gommeuses en particulier, par une solution de *gomme d'acacia*, dont les travaux de Meek, Gasser, Mac-Quarrie et Davis ont montré la longue persistance dans le torrent circulatoire.

Une des méthodes les plus ingénieuses qui ait été proposée pour la détermination de la masse du sang est la *méthode à l'oxyde de carbone*. Elle fut employée pour la première fois par Gréhant et Quinquand (1882). L'oxyde de carbone contracte, comme on sait, avec l'hémoglobine une combinaison difficilement dissociable

qu'il est facile de caractériser dans le sang circulant. La méthode consiste à faire absorber à l'animal une quantité connue de CO et à mesurer dans le sang la proportion d'hémoglobine oxycarbonée.

Gréhan et Quinquaud mesurent cette proportion par la diminution de la « capacité respiratoire » du sang, c'est-à-dire de l'aptitude à fixer de l'oxygène.

Chez le chien, ces auteurs évaluent le volume du sang à 82 cc. par kilogramme corporel.

Cette méthode fut reprise plus tard par Haldane et Smith. Ces auteurs mesurent la proportion d'hémoglobine oxycarbonée à l'aide d'une solution titrée de carmin.

Barcroft, Haldane et plus tard Whipple, Zuntz, Plesch et Erum (1908) ont également utilisé le procédé à l'oxyde de carbone en y apportant quelques heureuses modifications.

A côté de l'oxyde de carbone qui se fixe électivement sur les *globules rouges*, d'autres substances ont été introduites dans le sang dont on a cherché la concentration dans le *plasma*.

On fit appel aux anticorps qui ne disparaissent que lentement du courant sanguin. Behring (1911), Fries, Kammerer et Waldmann injectent du sérum antitétanique qui se prête à un titrage très précis.

Dans un important travail Meek et Gasser (1918-1919) utilisent une solution concentrée de gomme d'acacia. Ils injectent dans les veines du chien 4 centimètres cubes d'une solution à 20 % et dosent au bout de 5 minutes la concentration du sang en gomme en utilisant la mé-

thode de Kröber. Ils trouvent chez le chien une masse de sang de 9,72 %, chiffre assez comparable à ceux de la méthode « colorimétrique ».

Méthode colorimétrique

La *méthode colorimétrique* est basée sur l'introduction dans le courant sanguin d'un colorant non toxique, restant assez longtemps dans le sang pour y être bien mélangé et dont la concentration dans le plasma peut être facilement déterminé par procédé colorimétrique.

Après les premiers essais de Kottmann (1906), les auteurs américains ont repris cette méthode. Keith-Rowntree et Geraghty dans leur travail publié dans « The Arch. of Intern. Med. » en 1915, donnent une description détaillée du procédé, de leur technique et des résultats obtenus. Comme substance colorante, ils choisissent le « rouge vital », colorant conseillé par Herbert et Evans. Inoffensif pour l'organisme le *rouge vital* disparaît lentement du sang circulant, ce qui permet des déterminations en série sur le même sujet.

Leur technique est la suivante : immédiatement avant l'injection du rouge vital, ils font une prise de sang destinée à fournir un échantillon de plasma-témoin. Le rouge vital est ensuite introduit dans les veines en solution à 1,5 % à raison de 3 milligrammes par kilogramme corporel. Au bout de 3 minutes, quand le mélange du colorant avec le sang est supposé parfait, les auteurs font une nouvelle prise de sang dans une veine

distante de celle qui a servi pour l'injection. Lors de chaque prise, le sang est recueilli sur l'oxalate pour empêcher la coagulation. On centrifuge pendant 20 minutes, on decante et on dose colorimétriquement le rouge vital dans le plasma de la deuxième prise en tenant compte de la coloration propre du plasma fourni par la première prise.

En étudiant la courbe d'élimination du rouge vital, ces auteurs ont trouvé que la concentration de ce colorant dans le plasma atteint son maximum 4 minutes après l'injection. Son élimination est assez lente : ainsi 13 minutes après l'injection, il reste chez l'homme 94 % du colorant dans le plasma ; 2 heures après 65 % et 24 heures après 26 %.

Cette méthode est assez fidèle à elle-même : plusieurs déterminations faites sur le même sujet donnent des résultats pratiquement identiques.

Le rapport entre le plasma et les éléments cellulaires varie peu d'après ces auteurs chez le même individu à condition d'éviter la stase. Sous l'influence de celle-ci, le nombre des globules rouges peut augmenter de 4 à 5 %. D'après Keith, Rowntree et Geraghty, il n'y aurait pas de fixation du colorant sur les globules rouges et la quantité de rouge vital susceptible de disparaître de cette façon peut être considérée comme négligeable.

Ces auteurs trouvent chez l'homme une quantité de plasma variant de 42 à 56 centimètres cubes par kilogramme corporel et une masse de sang total de 78,5 à 97 centimètres cubes par kilogramme ; en moyenne 85 centimètres cubes.

Cinq ans plus tard, Hooper, Belt, Smith et Whipple reprennent les mêmes recherches et se servent également de la méthode colorimétrique en y ajoutant quelques modifications.

Le « vital-red » y est remplacé par le « brillant vital-red », qui appartient également à la série de la benzidine et dont les propriétés chimiques ressemblent beaucoup à celles de rouge vital.

La solution utilisée est à 1 % préparée avec de l'eau chlorurée à 9 %. Elle est injectée à raison de 1 centimètre cube par 5 kilogrammes d'animal.

La deuxième prise du sang est faite 4 minutes après la fin de l'injection. Ces auteurs recommandent eux aussi d'éviter la stase veineuse et de centrifuger pendant 30 minutes.

Le volume de sang chez un chien adulte et normal correspond d'après Hooper, Belt, Smith et Whipple à 101 cc., 3 par kilogramme du poids.

En 1921, Griesbach substitue à son tour au rouge vital, le rouge Congo, autre colorant appartenant à la série benzidine.

La solution de rouge-Congo dont il se sert est à 1 %, il en injecte 10 cc., fait une prise de sang 4 minutes après et centrifuge une heure. Sa solution de comparaison est une solution aqueuse, ce qui rend selon plusieurs auteurs la lecture colorimétrique difficile, en raison de la couleur jaune du plasma. Pour supprimer cette cause d'erreur, Griesbach conseille d'employer la lumière artificielle ou de remplacer la solution aqueuse-standard par une solution de rouge Congo dans du

sérum du même malade, sérum prélevé immédiatement avant l'injection.

D'après Griesbach, la quantité totale du sang chez l'homme correspond en moyenne $1/15$ du poids du corps, soit 67 cc. par kg.

Dans son travail sur la détermination de la masse du sang, Griesbach insiste sur la lenteur de la disparition du rouge Congo.

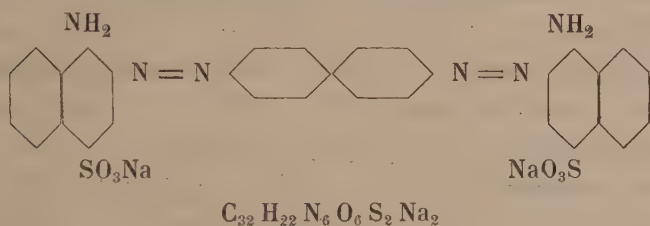
Harris, Seyderhelm, Lampe, Adler et Reimann confirment cette longue persistance dans le sang du rouge Congo, ainsi que son innocuité pour l'organisme.

C'est également l'opinion de Cipriani et Dominici (1926), de Gosio (1929), de Parino (1930), qui préfèrent le rouge Congo à toute autre substance colorante.

C'est à la méthode au rouge Congo que nous avons consacré nous-même les quelques recherches qui font l'objet de ce travail.

MÉTHODE AU ROUGE CONGO

Le *rouge Congo* est un sel sodique de l'acide benzidine-diazo-binaphtylamine-sulfonique.



C'est un corps facilement soluble dans l'eau (à 1,5 % d'après Benhold) colloïdal en solution aqueuse, s'éliminant lentement grâce à son poids moléculaire élevé (Griesbach). Ses micelles portent une charge électrique négative comme les globules rouges, ce qui, d'après Griesbach, expliquerait l'absence d'adsorption par ces derniers.

Comme d'autres colorants colloïdaux de la série benzidine, le rouge Congo n'est pas transformé dans l'organisme en leucobase incolore d'où la facilité avec laquelle sa destinée peut être suivie par la voie colorimétrique (Paunz, Karczag).

Sous l'influence de l'acide chlorhydrique, il se transforme en bleu Congo.

Le rouge Congo s'élimine très peu par les reins et presque totalement par le foie (78 % d'après Ninomiya). Il est d'une innocuité absolue, sans aucune toxicité pour l'organisme, ne provoquant jamais d'accidents ni même de sensation de malaise.

Préparation de la solution de rouge Congo

Nous avons employé pour nos expériences une solution de rouge Congo à 1 pour 200 préparée de la façon suivante: 2 gr. 50 de colorant en poudre, chimiquement pur (rouge Congo de Merck) sont dilués dans 500 cc. d'eau chlorurée à 8 ‰ de façon à rester en milieu isotonique. L'eau avait été préalablement bidistillée et bouillie pour avoir un pH neutre. En chauffant légèrement au bain-marie, la solution de rouge Congo devient tout à fait transparente. Elle est refroidie, filtrée et stérilisée pendant 20 minutes à l'autoclave à 120°. On la répartit ensuite en ampoules de 25 cc. et on stérilise à nouveau dans l'autoclave, à 115° pendant 15 minutes. La solution ainsi préparée est d'une belle coloration rouge et d'une limpidité parfaite.

Malgré ces précautions, il arrive souvent qu'au bout de quelques jours un léger précipité se forme au fond des ampoules. Il suffit de tiédir celles-ci avant l'emploi et de les agiter soigneusement pour que la solution reprenne sa limpidité première.

C'est pour être certaine de la parfaite dissolution du

rouge Congo que nous avons adopté le titre de 1 pour 200 au lieu de titre 1 pour 100 plus habituellement utilisé.

Nous avons injecté chez l'homme 20 cc. de la solution à 1 pour 200, soit 100 mgr. Chez le chien nous avons employé 20 cc. d'une solution à 1 pour 1000 ou d'une solution plus concentrée lorsque nous avions affaire à un animal de poids élevé.

Nous nous sommes tenue à ces doses pendant toute la durée de nos recherches de façon à avoir des résultats comparables, mais nous avons l'impression que la méthode gagnerait à l'emploi de doses plus élevées.

Application de la méthode chez le chien

Voici la technique que nous avons utilisée chez le chien : l'animal était anesthésié par le somnifène à raison de 0 cc. 5 par kilogramme en injection intra-veineuse. La dose nécessaire de somnifène était diluée dans une dizaine de centimètres-cubes d'eau chlorurée. On évite ainsi toute trace d'hémolyse du fait de l'injection.

Sur l'animal endormi, on dénudait l'artère fémorale et à l'aide d'une seringue soigneusement vaselinée on retirait par ponction artérielle une vingtaine de centimètres cubes de sang dont on chassait 16 cc. environ dans un tube à centrifuger gradué, contenant 0 cc. 5 d'une solution de citrate de soude à 10 %. Le tube, bouché avec le doigt, était renversé à deux ou trois reprises pour bien assurer le mélange.

Ce prélèvement de sang effectué, on injectait par la veine saphène du membre opposé les 20 cc. de la solution de rouge Congo bien exactement mesurés à l'aide d'une seringue Record. La vitesse de l'injection était réglée de façon à durer 10 secondes. Sitôt l'injection terminée, on attendait quatre minutes et demie et on faisait un nouveau prélèvement de sang dans l'artère fémorale, qu'on traitait de la même façon que le précédent.

Les deux échantillons de sang étaient alors énergiquement centrifugés pendant 10 minutes et l'on notait sur les tubes gradués le volume du culot globulaire et celui du plasma.

Evaluation de la concentration du plasma en rouge Congo

La concentration du plasma de la deuxième prise en rouge Congo peut être évaluée de différentes façons.

Certains auteurs ont utilisé le comparateur de Walpole, mettant d'un côté le plasma coloré et un tube d'eau distillée, de l'autre côté le plasma de la première prise devant laquelle on faisait défiler les tubes d'une échelle colorimétrique établie par avance.

Heilmeyer a vivement critiqué cette méthode en faisant valoir que le spectre d'absorption du rouge Congo était différent, indépendamment de toute coloration propre du plasma, suivant que la solution était faite dans l'eau ou dans une solution albumineuse. Aussi Seyderhelm et Lampe ont-ils utilisé dans leur méthode de comparaison non pas une solution étalon de rouge Congo dans l'eau, mais une solution de cette substance dans le plasma.

Afin de nous mettre à l'abri de cette cause d'erreur⁽¹⁾, nous avons procédé de la façon suivante : dans deux éprouvettes on introduisait à gauche 4 cc. du plasma

(1) Il nous a semblé que cette cause d'erreur n'était peut-être pas ainsi importante que le pense Heilmeyer. Utilisant en effet en lieu et place de comparateur l'ionomètre de Gaille, nous avons eu d'excellents résultats en employant comme solution de référence une solution de rouge Congo dans l'eau chlorurée. Mettant à gauche un plasma artificiellement coloré par une quantité connue de rouge Congo, à droite le même plasma non coloré surmonté d'une solution de rouge Congo de même titre qu'à gauche, mais dans l'eau chlorurée, nous avons réalisé l'équilibre optique pour des épaisseurs égales du plasma coloré et de la solution de référence. A gauche : 20 mm., à droite : 19 mm. 5, 20 mm., 20 mm. 5.

de la première prise, à droite 4 cc. du plasma coloré de la deuxième. A l'aide de deux microburettes on faisait tomber à gauche (c'est-à-dire dans le plasma non coloré) une quantité croissante de rouge Congo à 1 p. 5.000 (1), à droite (c'est-à-dire dans le plasma coloré) la même quantité d'eau chlorurée. On s'arrêtait lorsque les teintes dans les deux éprouvettes étaient aussi semblables que possible. On portait alors leur contenu dans chacun des godets d'un petit colorimètre de Dubosq et l'on appréciait l'écart de teinte, qu'on ne tolérait pas supérieur à 5 %. Si l'écart était supérieur, on recommençait le premier ajustage des teintes et on portait à nouveau au colorimètre.

Conduite des calculs

Supposons qu'on ait ajouté aux 4 cc. de plasma de la première prise 0 cc. 90 de la solution de rouge Congo à 1 p. 5000 et soient 9 mm. 8 et 10 mm. les épaisseurs du plasma ainsi traité et du plasma de la deuxième prise additionné de 0 cc. 90 d'eau chlorurée, qui donnent au colorimètre l'équivalence des teintes. La concentration en rouge Congo du plasma de la deuxième prise avant toute dilution a pour valeur :

$$\frac{0,90 \times \frac{1}{5.000}}{4} \times \frac{9,8}{10}$$

(1) Cette solution à 1 pour 5000 était obtenue en diluant cinq fois la solution à 1 pour 1000 qui avait servi à l'injection. Une légère erreur dans le taux de cette dernière n'aurait eu ainsi aucune conséquence fâcheuse pour le calcul final de la masse sanguine.

Supposons maintenant que dans le tube à centrifuger les volumes des globules et du plasma aient été respectivement : 7 cc. 1 pour les globules et 9 cc. 2 pour le plasma ; comme il y a eu dans le tube à centrifuger adjonction au sang de 0 cc. 5 de citrate de soude, le plasma s'est trouvé dilué dans la proportion de $\frac{9,2 - 0,5}{9,2}$,

soit : $\frac{8,7}{9,2}$.

La concentration véritable du plasma en rouge Congo doit donc être corrigée par ce rapport et devient :

$$\frac{0,90}{4 \times 5000} \times \frac{9,8}{10} \times \frac{9,2}{8,7}$$

Or, l'animal a reçu en vue de détermination de la masse du sang, 20 cc. d'une solution à 1 p. 1.000

Si V est le nombre de centimètres-cubes de plasma, la quantité de rouge Congo injecté donne dans ce plasma une concentration de $\frac{20}{V} \times \frac{1}{1.000}$. Cette concentration doit être égale à celle que donne la détermination colorimétrique, c'est-à-dire :

$$\frac{20}{V \times 1.000} = \frac{0,90}{4 \times 5.000} \times \frac{9,8}{10} \times \frac{9,2}{8,7}$$

d'où :
$$V_p = \frac{400 \times 8,7 \times 10}{0,90 \times 9,2 \times 9,8} = 425$$

Pour passer du volume du plasma au volume du sang total il suffit de multiplier ce chiffre par le rapport du sang total au plasma, rapport vrai, c'est-à-dire, corrigé

de la dilution tenant à l'adjonction de citrate de soude, dans le cas particulier envisagé :

$$\frac{16,3 - 0,5}{9,2 - 0,5} = \frac{15,8}{8,7} = 1,815$$

Finalement :

$$V_T = 425 \times 1,815 = 771$$

Application de la technique

La technique utilisée chez l'homme s'inspire des considérations précédentes. Il va sans dire qu'on s'entourera ici de toutes les précautions d'aseptie indispensables ; la seringue Record, qui ne peut être portée à haute température, sera stérilisée par immersion dans le chloroforme.

Le sujet doit être examiné à jeun et couché. On prendra soin de faire les prélèvements de sang et l'injection de rouge Congo sur des bras différents. La solution de rouge Congo (20 cc. à 1 p. 200), tiédie préalablement, sera poussée lentement en une minute. Comme nous l'avons dit, cette injection n'est suivie d'aucun incident.

Discussion des causes d'erreurs

Un certain nombre d'objections théoriques peuvent être faites à la méthode au rouge Congo :

1° la fixation rapide du colorant sur les globules rouges et la rétention d'une certaine quantité de plasma coloré dans les interstices du culot globulaire ;

2° l'élimination progressive du colorant et la diffi-

culté de fixer le moment précis où le mélange peut être considéré parfait ;

3° l'inégale répartition des globules et du plasma dans les différents territoires vasculaires.

I. — Rétention du colorant dans le culot globulaire.

Il est facile par une expérience *in vitro* d'établir si cette fixation a lieu et dans quelle mesure elle intervient.

Dans ce but nous avons recueilli sur un chien normal 150 cc. de sang que nous avons rendu incoagulable par adjonction de citrate de soude. A 100 cc. de ce sang citraté nous avons ajouté 3 centimètres cubes d'une solution de rouge Congo à 1 p. 1000 ; le reste du sang fut laissé tel quel.

Au bout de quelques minutes on centrifuge un volume connu de ce sang coloré et du sang non coloré, on lit pour chaque fraction le rapport du volume du culot au volume du plasma, on sépare le plasma et on dose la proportion du rouge Congo dans le plasma coloré suivant la technique habituelle.

La quantité de solution qu'il fallut ajouter à 4 cc. du plasma non coloré pour avoir équivalence des teintes (voir p. 17) fut 0 cc. 91.

Or, la centrifugation a donné comme rapport apparent du volume du plasma au volume du sang $\frac{9 \text{ cc. } 4}{16 \text{ cc.}}$.

Puisqu'il reste du plasma inclus entre les globules, ce volume plasmatique apparent 9 cc. 4 n'est qu'une frac-

tion a du volume plasmatique réel $\frac{9,4}{a}$. Par ailleurs une fraction du colorant se fixe sur les globules : soit b la fraction non fixée qu'on doit retrouver entièrement dans le plasma. La comparaison colorimétrique donne l'égalité suivante :

$$\frac{3b}{1.000} \times \frac{1}{103 \times \frac{9,4}{16a}} \times \frac{4}{4,91} \times 10 = \frac{0,91}{5.000} \times \frac{1}{4,91} \times 10$$

$$a \times b = \frac{0,91 \times 103 \times 9,4}{3 \times 4 \times 5 \times 16 \times 10} \\ = 0,918$$

Il y a donc disparition apparente de $1 - 0,918 = 8,2 \%$ de rouge Congo.

D'autres expériences nous ont donné les chiffres suivants : 6 %, 9,5 %, 13 %, 0 %. En moyenne 7 %. Ce qui revient à dire que le volume sanguin calculé sans tenir compte de cette cause d'erreur doit être corrigé en le multipliant par 0,93.

Harris propose un chiffre de correction très analogue.

Par contre l'erreur portant sur le volume plasmatique total n'est due qu'à la fixation du colorant sur les globules. Elle est donc plus faible et négligeable devant les erreurs expérimentales qui atteignent 10 %.

II. — Élimination du rouge Congo

Bien que le rouge Congo soit une substance qui persiste très longtemps dans le torrent circulatoire, son élimination progressive à partir du moment de l'injection est un fait indiscutable.

On peut s'en rendre facilement compte en suivant par des prises en série l'affaiblissement des teintes du plasma coloré.

Nous reproduisons ci-contre quelques courbes d'élimination obtenues chez des chiens.

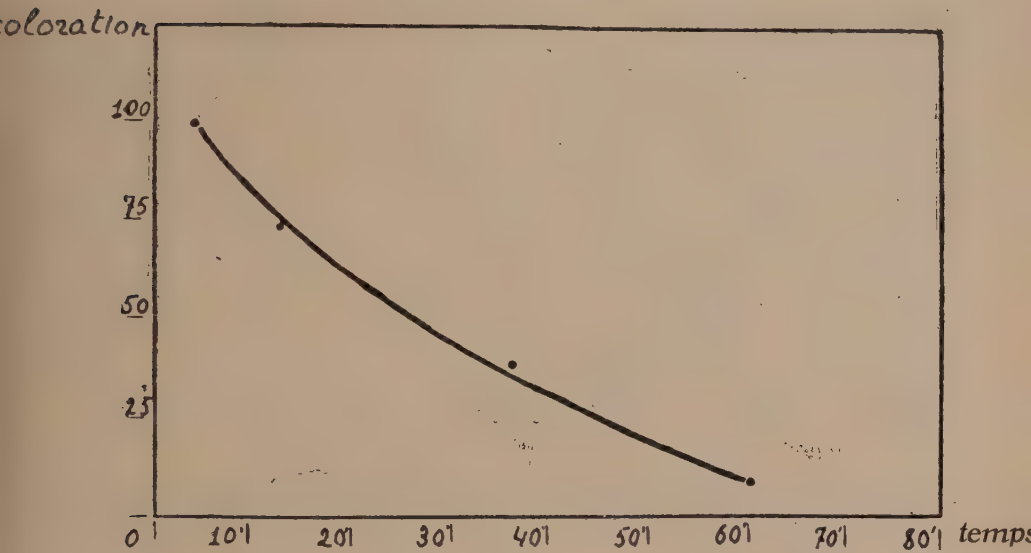


FIG. 1

On peut y voir que la concentration du plasma en colorant décroît dès les premières minutes qui suivent l'injection, assez lentement il est vrai au cours de la première demi-heure, plus lentement encore dans les demi-heures suivantes.

En appelant 100 la coloration initiale du plasma nous avons trouvé en moyenne environ 80 % à la fin de la première demi-heure, et au bout d'une heure plus de 50 %.

Certains animaux nous ont donné cependant une élimination plus rapide, tels les chiens nos 4 et 5, dont le plasma ne renfermait plus au bout d'une heure que 10 % de la quantité injectée.

Sur un de nos animaux (fig. 3), nous avons fait dans

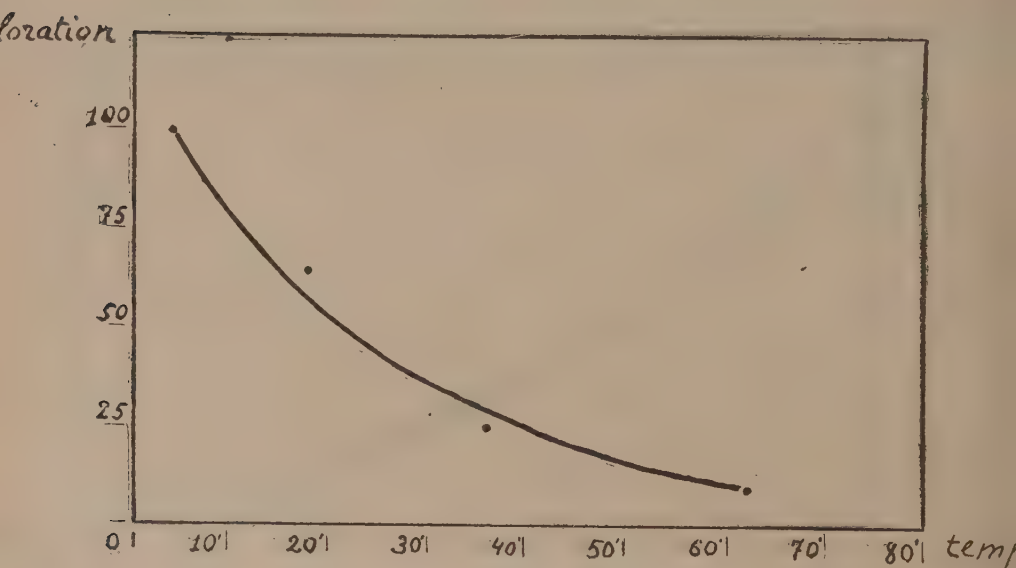


FIG. 2

de bonnes conditions expérimentales des prélèvements de sang de minute en minute dans les premières cinq minutes suivant l'injection. La coloration maxima a été obtenue au bout d'une minute et atteignait 107 % ; 100 % étant la coloration à la fin de la deuxième minute ; au bout de la troisième minute la concentration passait à 95 % et tombait 92 % et 88 % à la fin de la quatrième et de la cinquième minutes.

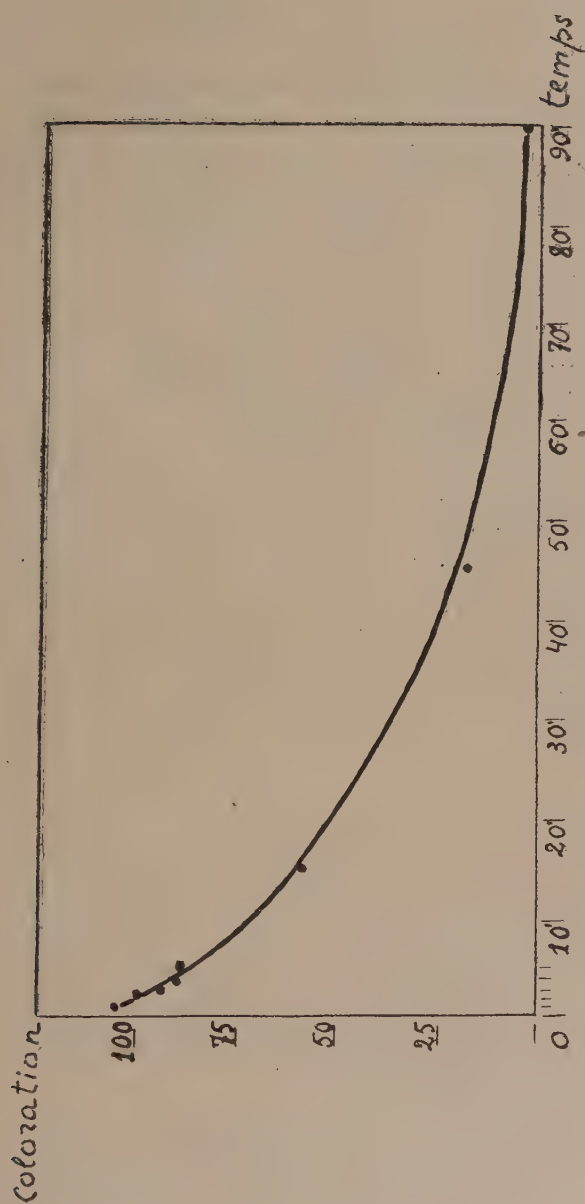


Fig. 3

Il convient de remarquer ici que deux conditions interviennent dans les premières minutes qui suivent l'injection pour faire baisser la teneur du plasma en rouge Congo : d'une part le mélange plus parfait qui disperse la matière colorante et d'autre part l'élimination débutante. La courbe que nous rapportons ci-dessus ne montre aucune cassure permettant de faire le départ entre ces deux phénomènes de mélange et d'élimination. Si bien que la détermination exacte du temps minimum nécessaire pour que le mélange soit parfait est impossible à préciser expérimentalement.

On se trouve donc, dans le problème de la détermination de la masse du sang, aux prises avec ces deux difficultés : d'une part, attendre suffisamment pour que le mélange soit parfait, et d'autre part ne pas attendre trop pour ne pas permettre au rouge Congo de disparaître en quantité notable. Comme nous venons de le dire, le moment optimum pour la prise de sang en vue des dosages est impossible à fixer expérimentalement.

Comme de nombreux auteurs, nous avons adopté arbitrairement le délai de $\frac{1}{4}$ minutes et demie après l'injection de rouge Congo. Au voisinage de ce temps un écart d'une minute correspond à une différence d'environ 2 à 3 % dans l'évaluation de la masse du sang.

Nous avons pu vérifier au cours de nos recherches que le rouge Congo s'éliminait beaucoup plus par la bile que par les urines.

III. — Inégale répartition des globules et du plasma.

La méthode au rouge Congo donne le volume plasmatique et l'on déduit de ce volume celui de la masse du sang total en tenant compte du rapport du volume globulaire au volume plasmatique, fourni par la centrifugation de l'échantillon du sang prélevé en vue des dosages.

Cette déduction n'est légitime que si le rapport $\frac{\text{globules}}{\text{plasma}}$ a une valeur fixe dans tout le système vasculaire.

Or, toute une série d'expériences ont depuis longtemps montré que ce rapport est grandement influencé par les conditions circulatoires. Il peut subir du fait de la stase des modifications considérables et pour ne prendre qu'un exemple, on sait que la proportion des globules dans le sang des sinus de la rate est beaucoup plus considérable que dans le sang circulant.

Il y a là une cause d'erreur inhérente à toutes les méthodes de détermination de la masse du sang, que celles-ci évaluent directement la masse plasmatique (rouge Congo) ou qu'elles évaluent la masse globulaire (oxyde de carbone).

Nous verrons toutefois que cette cause d'erreur est peut-être moins importante qu'on pourrait le supposer. Elle agit en effet en sens inverse pour la méthode globulaire et pour la méthode plasmatique, tendant à introduire un écart entre les résultats trouvés par ces deux méthodes. Or, comme nous l'indiquerons plus loin, la technique à l'oxyde de carbone et celle au rouge Congo nous ont donné pour l'évaluation de la masse sanguine chez le chien des valeurs assez concordantes.

Fidélité de la méthode

Nous venons de discuter un certain nombre de causes d'erreurs susceptibles d'intervenir dans la méthode au rouge Congo. Il convient d'envisager maintenant dans quelle mesure cette méthode se montre fidèle à elle-même.

TABLEAU N° 1

Chiens N°	Poids en kg.	Première détermination		Deuxième détermination	
		V. plasmat. en cc.	V. sanguin en cc. (corrigé)	V. plasmat. en cc.	V. sanguin en cc. (corrigé)
11	6	365	560	309	560
12	7 1/2	449	720	412	720
13	11	740	1270	698	1235
14	9 1/2	652	1035	628	1190
15	8	870	1005	887	865
16	8	756	1225	526	965
17	6	397	570	304	445
18	7	424	715	344	580
19	10 1/2	752	1355	696	1335
20	10 1/2	452	680	396	570
21	7	603	1080	601	1075
22	8	823	1325	756	1290
23	10	628	1080	522	970
24	10	635	1100	617	1105
25	10	642	1115	542	1065
26	12	785	1345	677	1215
41	11	849	1140	750	1020
43	22 1/2	1587	2300	1400	1960
44	7 1/2	418	660	400	625
46	12 1/2	662	1015	607	965
47	6 1/2	398	635	374	940
48	12	807	1270	820	1290
50	6	377	640	337	605
51	12	755	1240	663	1250
53	12	809	1460	653	1300
54	9	590	1165	545	1150
55	11	960	1510	990	1610
57	25	1320	2180	1310	2305
59	19	1085	1860	1025	2040
60	24	1397	2250	1120	2035

Dans ce but nous avons procédé à plusieurs déterminations sur le même sujet, soit chez l'homme, soit chez

l'animal, chez ce dernier avec ou sans saignée intermédiaire.

Chez une hypertendue, soumise à un régime et une hygiène générale relativement fixes, nous avons au cours de trois déterminations successives trouvé en litres une masse sanguine de 3,974 ; 4,398 ; 4,461.

Keith, Rowntree et Geraghty, avec le rouge vital, ont obtenu des concordances analogues.

Chez le chien endormi, deux déterminations faites à une heure de distance environ, et sans saignée dans l'intervalle, nous ont donné les chiffres consignés dans le tableau N° 1 :

Comme on voit, l'écart entre les deux déterminations reste inférieur à 7 %. Il convient du reste de remarquer que cet écart s'est presque toujours manifesté dans le même sens, le second chiffre étant inférieur au premier. Un écart tenant uniquement à l'infidélité de la méthode devrait se produire au contraire tantôt dans un sens, tantôt dans l'autre. Il est possible que dans nos expériences une baisse réelle de la masse de sang ait eu lieu entre les deux déterminations, baisse qui se conçoit facilement chez un animal immobilisé et n'absorbant aucun liquide.

Sur 13 chiens nous avons, peu de temps avant la deuxième détermination, pratiqué une saignée abondante d'environ $\frac{1}{5}$ de la masse sanguine primitive. (Tableau N° 2).

Dans ces conditions, les chiffres trouvés lors de la seconde détermination, compte tenu de la soustraction sanguine, ont été plus élevés que ceux de la première,

aussi bien pour le volume du plasma que pour celui du sang total.

L'augmentation du volume plasmatique s'explique vraisemblablement par l'afflux compensateur des sérosités interstitielles, afflux qui se produit très rapidement comme conséquence de la soustraction sanguine.

TABLEAU N° 2

Chiens N°	Poids en kg.	Masse sang. avant la saignée		Quantité de sang retirée par la saignée en cc.	Masse sang après la saignée		Somme de la deuxième masse sang et de la saignée	
		Plasma. en cc.	Sang tot. en cc.		Plasma. en cc.	Sang tot. en cc.	Plasma en cc.	Sang tot. en cc.
27	9	727	990	240	567	740	730	980
28	9	785	1190	237	649	1043	785	1280
29	10	712	1195	236	648	1069	778	1305
31	9	539	915	237	500	883	722	1120
32	6	420	680	185	333	540	436	725
33	11	871	1270	239	685	941	768	1180
34	8 1/2	519	735	236	377	549	522	785
35	10	858	1110	235	676	855	881	1090
36	7	450	755	188	352	587	442	775
37	7 1/2	421	655	185	347	530	453	735
38	6 1/2	388	575	136	357	549	437	685
39	10	573	955	235	473	835	524	1065
40	4	337	425	85	344	425	405	510

En plus de cette endosmose plasmatique, intervient parfois dans l'augmentation de la masse totale un certain degré de polyglobulie succédant à la saignée.

D'une façon générale, l'augmentation de la masse du sang est restée en moyenne légèrement inférieure à 8 %.

Valeur moyenne de la masse du sang

Nous avons appliqué la méthode au rouge Congo sur 61 chiens de 4 à 30 kilogrammes. Les résultats trouvés

TABLEAU N° 3

Chiens N°	Poids en kg.	V. plasm. en cc.	V. plasm. par kg. en cc.	V. du sang total		V. du sang tot. par kg.		Rapport du sang tot. au poids du corps (corrigé)
				(brut)	(corrigé)	(brut)	(corrigé)	
16	8	736	94	1314	1225	164	153	1/6,5
30	7	539	80	1055	980	150	140	1/7,1
25	10	612	76,5	1200	1115	150	140	1/7,1
47	6 1/2	398	61	681	635	147	137	1/7,3
55	11	960	87	1620	1510	146	136	1/7,4
21	7	603	75	1162	1080	145	135	1/7,4
22	8	828	82,3	1424	1325	142,4	132,5	1/7,6
28	7	785	87	1280	1190	142	132	1/7,6
54	9	590	65	1252	1165	140	130	1/7,7
19	10 1 2	752	70,6	1436	1355	138	128,5	1 7 8
42	28 1 2	2390	84	3915	3640	137	127,5	1/7,9
15	8	870	109	1080	1005	135	126	1/8
8	8	620	77,5	1070	995	133,7	124	1/8,1
33	12	449	67	774	1460	130	121	1/8,3
29	10	712	71,3	1283	1195	127	118	1/8,5
33	11	871	78	1367	1270	124	115	1/8,7
13	11	740	67,2	1365	1270	124	115	1/8,7
32	6	420	70	730	680	121,6	113	1/8,9
4	7	526	75	850	790	121	113	1/8,9
26	12	725	65,4	1445	1345	120	112	1/8,9
35	10	858	85,8	1193	1110	119	111	1/9
24	10	635	63,5	1185	1100	118,5	110	1/9,1
5	7	509	72	828	770	118	110	1/9,1
27	9	727	80,8	1066	990	118	110	1/9,1
14	9 1 2	652	68	1115	1035	117	109	1/9,2
23	10	628	62,8	1158	1080	115,8	108	1/9,3
7	8	404	50,5	920	855	115	107	1/9,3
36	7	450	64	810	755	115	107	1/9,3
50	6	377	62	690	640	115	107	1/9,3
48	12	807	67	1368	1270	114	106	1/9,4
58	24	1109	61	2767	2560	114	106	1/9,4
40	4	337	84	454	425	113	105	1/9,5
41	11	849	77	1223	1140	111	103	1/9,7
18	7	424	60	770	715	110	102	1/9,8
51	12	755	63	1330	1240	110	102	1/9,8
31	9	539	59,8	983	915	109	101	1/9,9
43	22 1 2	1587	70,5	2470	2300	109	101	1/9,9
6	7	474	67,7	730	697	107	100	1/10
3	8	435	54,3	842	783	105	99	1/10,1
59	19	1085	57	2000	1860	105	98	1/10,2
20	10 1 2	452	65	732	680	104	97	1/10,3
42	7 1 2	449	60	774	720	103	95	1/10,5
39	10	573	57,3	1026	955	102,6	95	1/10,5
17	6	397	66	612	570	102	94	1/10,6
4	7	487	69,5	747	695	101	93	1/10,8
11	6	365	60,8	603	560	100,5	93	1/10,8
60	24	1397	57	2415	2250	99,6	91	1/11
45	11	507	51	1083	1010	98	91	1/11
49	6	370	61	588	550	98	91	1/11
61	12	657	55	1177	1095	98	90	1/11,1
56	12 1 2	722	57	1210	1125	97	88	1/11,4
38	6 1 2	388	59	620	575	95	87	1/11,5
34	8 1 2	519	61	791	735	94	87	1/11,5
37	7 1 2	421	56	707	655	94	87	1/11,5
44	7 1 2	418	54	710	660	94	87	1/11,5
10	10	504	50,4	860	800	93,6	87	1/11,5
57	25	1320	53	2340	2180	93,6	87	1/11,5
2	7	454	65	655	608	93	86	1/11,6
46	12 1 2	662	55	1090	1015	90	84	1/11,9
52	6	222	37	405	375	67	62	1/16
9	11	411	33	715	665	55	51	1/19,5

concernant le volume plasmatique et le sang total sont classés par proportion décroissante dans le tableau N° 3 :

La moyenne brute de ces chiffres par kilogramme corporel donne 64 cc. 4 pour le plasma (chiffres extrêmes 109 cc.-33 cc.) et 108 pour le sang total (chiffres extrêmes 164 cc -55 cc.).

Ces valeurs changent peu en supprimant les deux expériences de tête et de fin du tableau.

La moyenne pour le plasma devient 64 cc. 6 par kilogramme corporel (chiffres extrêmes 109 cc.-53 cc.) et pour le sang total 108 cc. (chiffres extrêmes 150 cc.-90 cc.).

Après correction de 7 %, tenant à la fixation et à la rétention interglobulaire (correction qui ne porte en fait que sur le sang total), nous trouvons pour le sang total 100 cc. par kilogramme de poids corporel, soit 1/10 du poids du corps.

La lecture du tableau montre du reste que le plus grand nombre des chiens se groupent autour de la valeur moyenne de 100 cc. par kilogramme.

TABLEAU N° 4

V. du sang tot. par kg. en cc.	Nombre des chiens
160-150	1
150-140	0
140-130	7
130-120	6
120-110	7
110-100	16
100-90	12
90-80	10
80-70	0
70-60	1
60-50	1

Sur 61 chiens, 38 (46 %) ont une masse sanguine comprise entre 110 cc. et 80 cc. par kilogramme du poids du corps. (Tableau N° 4).

La masse du sang est à peu près proportionnelle au poids de l'animal, autrement dit le nombre de centimètres cubes de sang par kilogramme de poids corporel varie peu pour des animaux de taille très différente.

Nous avons trouvé, en effet, les valeurs moyennes suivantes :

TABEAU N° 5

Nombre de chiens	Poids en kg.	V. au sang tot. par kg. corporel en cc.
6	30-20	102,8
4	20-15	97,6
22	15-10	105
33	10-5	107

Chez l'homme normal ou atteint d'affection n'intéressant pas le système vasculaire ou hématopoïétique. (Tableau N° 6), nous avons obtenu une valeur moyenne de 52 cc. 8 de plasma et 88 cc. de sang total par kilogramme de poids corporel (chiffres extrêmes pour le sang total 153 cc.-68 cc.)

Ce chiffre de 88 cc. de sang total, soit 1/11,3 du poids du corps est non corrigé en ce qui concerne l'erreur due à la rétention du colorant dans le culot globulaire (1).

Chez cinq hypertendus (Tableau N° 7), nous avons trouvé des valeurs peu différentes de celles de sujets normaux et en moyenne légèrement inférieures : le chiffre moyen pour le plasma est de 47 cc. 1 et pour

(1) Nous ne nous sommes pas cru autorisée à adopter pour l'homme le chiffre de correction (0,93) trouvé chez le chien.

Des expériences en cours nous permettront prochainement de combler cette lacune.

le sang total de 80 cc. 1, par kilogramme de poids corporel, soit 1/11,1 du poids du corps.

TABLEAU N° 6

Observations N°	Poids du sujet en kg.	V. du plasma en cc.	V. du plasma par kg. en cc.	V. du sang tot. en cc.	V. du sang tot par kg. en cc.	Rapport du sang tot. au poids corporel
2	72	4220	58	7400	103	1/9,7
5	70	4100	58	7250	103	1/9,6
4	70	4760	68	6930	98	1/10,2
18	55	2674	48,6	5304	96,5	1/10,3
10	78	4200	53,8	7550	96	1/10,4
13	55	2780	50,5	5000	90	1/11
6	75	3324	44	5650	87,5	1/11,5
8	56	2898	51	4872	87	1/11,5
11	60	3065	51	5234	87	1/11,5
15	43	2319	54	3705	86	1/11,6
22	65	4250	65	5560	85	1/11,7
23	55	2651	48	4705	85	1/11,7
17	55	2735	49	4658	84	1/11,8
16	60	3470	58	4960	82	1/12,2
12	55	2695	49	4250	70	1/13
3	55	2152	39	3730	68	1/14,7

TABLEAU N° 7

Observations N°	Poids en kg.	T. A.	V. du plasma en cc.	V. du plasma par kg. en cc.	V. du sang tot. en cc.	V. du sang tot. par kg. en cc.	Rapport du sang au poids corporel
7	86	24-10	4.295	49	7.144	83	1/12
9	58	23-13	2.609	44,9	4.461	77	1/13
10	58	23-13	2.412	41,6	4.398	76	1/13,2
20	61,500	25-12	2.867	54	4.480	92	1/10,9
21	60,700	30-18	3.266	46	5.588	72,8	1/13,7

Deux polyglobuliques nous ont donné l'un un chiffre élevé de sang total de 101 cc. par kilogramme, l'autre un chiffre à peine supérieur à la normale (92 cc. par kilogramme).

Chez le premier de ces polyglobuliques du poids considérable de 120 kg., la masse totale du sang atteignait la valeur énorme de 12 l. 500 cc. Des chiffres comparables sont signalés dans la littérature médicale.

Chez ces deux sujets, le volume plasmatique était très abaissé : 26 cc. par kilogramme pour le premier et 35 cc. pour le second.

**COMPARAISON DE LA MÉTHODE
AU ROUGE CONGO
AVEC LES AUTRES PROCÉDÉS
DE DÉTERMINATION DE LA MASSE DU SANG**

Il nous a paru intéressant de rapprocher les résultats obtenus par la méthode au rouge Congo de ceux donnés par d'autres procédés de détermination du volume sanguin.

Dans ce but nous avons utilisé chez le chien concurremment à l'injection du rouge Congo le procédé du lavage et le procédé à l'oxyde de carbone.

Nous donnons tout d'abord quelques détails techniques d'application de ces deux procédés.

I. — Méthode du lavage

L'animal étant anesthésié, on prélève immédiatement par ponction artérielle un centimètre cube de sang qu'on mesure bien exactement et qu'on amène dans une fiole jaugée à 100 cc. avec de l'eau distillée légèrement carbonatée. On obtient ainsi une solution bien limpide

d'hémoglobine correspondant au sang de l'animal dilué au centième (solution T).

Ce prélèvement effectué, l'animal est saigné à blanc à l'aide d'une canule placée dans le bout central de l'artère carotide et le sang est recueilli dans une éprouvette contenant une solution anticoagulante de citrate de soude (prélèvement A).

Avant la mort de l'animal, le cœur ne battant plus qu'à peine, on introduit dans la veine fémorale (bout central) une solution isotonique de chlorure de sodium à 8 ‰ qui ressort chargée de sang par la carotide.

Ce premier liquide de lavage est recueilli dans un récipient gradué et l'injection n'est arrêtée qu'au moment où le liquide qui s'échappe par la carotide est à peine coloré (prélèvement B).

Dans un troisième temps, on ouvre les cavités abdominale et thoracique, on sectionne les gros vaisseaux et on recueille à l'éponge, aussi complètement que possible, le sang qui s'écoule spontanément ou par expression des organes. Cette troisième portion de liquide est reçue séparément dans une éprouvette et mesurée (prélèvement C).

Dans chacun des prélèvements, on dose colorimétriquement par comparaison avec la solution T la concentration en hémoglobine.

Soit V , V' , V'' , les volumes de chacun des prélèvements : a , b , c , leur concentration en hémoglobine par rapport à celle de la solution T ; si on appelle Q , Q' , Q'' ,

le nombre de centimètres cubes de sang renfermé dans chacun des prélèvements, on a :

$$\frac{Q}{V} = a \times \frac{1}{100}$$

$\frac{1}{100}$ étant la concentration du sang dans la solution T, d'où :

$$Q = V \times a \times \frac{1}{100}$$

On a de même : $Q' = V' \times b \times \frac{1}{100}$

et : $Q'' = V'' \times c \times \frac{1}{100}$

d'où $M = Q + Q' + Q'' = (Va + V'b + V''c) \times \frac{1}{100}$

Onze déterminations faites sur des chiens de 6 à 11 kg. nous ont donné des valeurs suivantes (voir tableau 8).

TABEAU N° 8

Chiens N°	Poids en kg.	V. du sang tot. en cc.	V. du sang tot. par kg. en cc.	Rapport du sang tot. au poids du corps
14	9 1/2	948	99	1/10
10	10	863	86,3	1/11,5
18	7	600	85	1/11,7
8	8	670	84	1/11,9
15	8	700	84	1/11,9
17	6	475	79	1/12,6
13	11	856	78	1/12,8
12	7 1/2	569	76	1/13,2
7	8	580	72	1/13,7
6	7	456	65	1/15,3
11	6	250	41,7	1/24

La moyenne de ces chiffres est 77 cc. 2 par kilogramme corporel (chiffres extrêmes 41,7—99), soit 1/12,9 du poids du corps.

Cette valeur est très comparable à celles qu'ont trouvées la plupart des auteurs qui ont appliqué cette

méthode (Welcker, 78 cc. par kg. ; Brodin, Richet, Saint-Girons, 67 cc. 4 ; Heidenhain, Plesch, Smith, Arnold, Whipple, 72 gr. 3 par kg.).

Par contre elle est d'environ 25 % inférieure à celle que donne la méthode au rouge Congo.

Peut-être cet écart est-il dû en partie à ce que le lavage ne retire jamais complètement la totalité de l'hémoglobine.

Méthode à l'oxyde de carbone

Cette méthode consiste, comme on sait, à faire absorber par l'animal un volume connu d'oxyde de carbone et à doser la concentration de gaz dans un échantillon de sang circulant.

Préparation de l'oxyde de carbone.

L'oxyde de carbone se prépare par la méthode classique de décomposition du formiate de soude par l'acide sulfurique.



Dans une fiole conique renfermant 10 grammes de formiate de soude nous ajoutons progressivement à l'aide d'un entonnoir à robinet de l'acide sulfurique à 93° B. Immédiatement ou en chauffant légèrement, le dégagement de l'oxyde de carbone s'effectue. On laisse s'échapper sous la hotte les premières portions qui sont abondamment mélangés d'air et on recueille ensuite le gaz sous l'eau dans un ballon. On titre exactement son degré de pureté par procédé eudiométrique.

Administration de l'oxyde de carbone à l'animal.

Le chien est endormi au somnifène (0 cc. 5 par kilogramme). Sa trachée est reliée par l'intermédiaire d'une canule de verre à un ballon de caoutchouc contenant 5 à 10 litres d'air ; dans ce ballon nous avons introduit un volume connu d'oxyde de carbone, insuffisant pour provoquer la mort de l'animal, mais suffisant pour amener un coefficient d'intoxication de 40 à 50 %.

Nous laissons l'animal respirer ce mélange pendant 15 minutes, c'est-à-dire un temps assez long pour que l'absorption de l'oxyde de carbone puisse être considérée comme totale et le CO uniformément reparti dans la masse sanguine. Au bout de ce temps, nous prélevons dans l'artère fémorale 10 cc. de sang que nous versons dans un tube, renfermant du fluorure de sodium pour empêcher la coagulation.

Dosage de l'oxyde de carbone dans le sang de l'animal.

Les méthodes utilisables sont nombreuses : méthode spectroscopique, méthode volumétrique de Haldane, etc.

Nous avons eu recours à la technique très précise, proposée et mise au point par Nicloux. Cette technique comprend :

- 1° L'extraction de l'oxyde de carbone du sang ;
- 2° L'analyse eudiométrique du gaz extrait.

EXTRACTION DE L'OXYDE DE CARBONE DU SANG.

Cette extraction se fait à l'aide de l'appareil de Nicloux représenté sur la figure 4.

Dans le ballon A de 100 cc. nous introduisons 8 cc. d'acide phosphorique à 60° B et 15 cc. d'eau distillée bouillie.

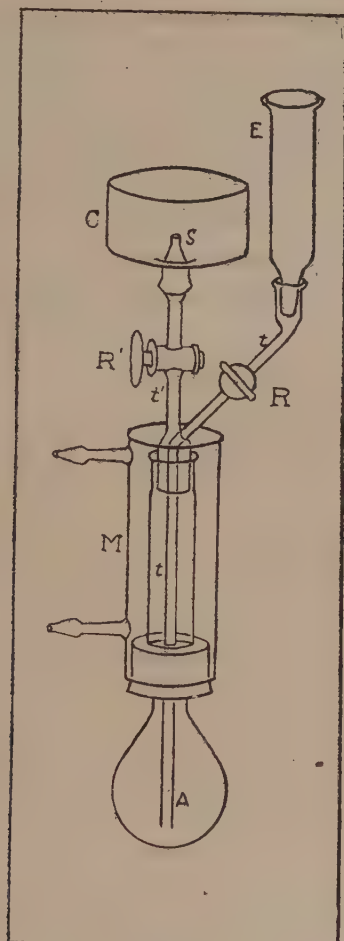


FIG. 4

Après avoir disposé le réfrigérant sur sa bague de caoutchouc, nous fermons le ballon avec son bouchon,

remplissons le tube t d'eau distillée, fermons le robinet R et ouvrons le robinet R'. Ensuite nous plongeons l'appareil aux deux tiers dans un bain de chlorure de calcium à 110° et mettons en marche le réfrigérant. Le vide est fait au moyen d'une pompe à eau reliée à la partie supérieure S du tube t'.

La solution d'acide phosphorique entre en ébullition presque immédiatement et en quelques secondes le vide est réalisé. Il faut fermer le robinet R' et introduire de l'eau dans l'élargissement supérieur du tube t'. Ensuite nous versons dans l'éprouvette E, adaptée à son rodage, 10 cc. de sang mesurés à la pipette et nous ouvrons très doucement le robinet R ; le sang entre alors lentement dans le ballon. On assure sa pénétration totale en lavant l'éprouvette et le tube t avec 15 cc. d'eau distillée en trois fois.

Au contact de l'acide phosphorique, et sous l'influence du vide le sang abandonne ses gaz, ce qui provoque la formation d'une mousse abondante. Cette mousse envahit tout l'appareil, puis tombe dans le ballon, mais subsiste dans le col.

Pour la faire disparaître, il faut après 7 ou 8 minutes d'ébullition retirer le ballon du bain et le refroidir par un jet de pissette. Ensuite à l'aide d'un entonnoir adapté à la tubulure S on fait rentrer 10-15 cc. d'eau bouillie très chaude en ouvrant et refermant brusquement le robinet R'. et en évitant l'entrée de l'air. L'eau aspirée dans le col entraîne la mousse dans le ballon ; celle-ci disparaît complètement dès que le ballon est plongé à nouveau dans le bain de chlorure de calcium. Répéter la ma-

nœuvre 2 ou 3 fois s'il est nécessaire et laisser ensuite l'ébullition se poursuivre pendant 10 ou 15 minutes.

Une fois l'ébullition terminée, le ballon est retiré du bain de chlorure de calcium, refroidi, et par l'éprouvette E, on y introduit de l'eau bouillie chaude.

L'eau pénètre tant qu'il existe un vide partiel et le gaz se trouve emprisonné dans la partie supérieure du col. Après avoir adapté à l'orifice S la tulipe C, pleine d'eau, on ouvre le robinet R' et l'on recueille le gaz dans un tube gradué.

2° DOSAGE DU GAZ EXTRAIT.

Ce dosage se fait avec le grisoumètre de Gréhan-Nicloux. Le gaz, extrait du sang, renferme avec l'oxyde de carbone, de l'acide carbonique, de l'oxygène et de l'azote. On se débarrasse de l'acide carbonique à l'aide d'une pastille de potasse, et après l'élimination de celle-ci le mélange gazeux est introduit dans le tube grisoumétrique capillaire ou « microcloche » de Nicloux.

Microcloche de Nicloux.

La figure 5 montre la forme spéciale de ce tube et son mode de remplissage. C'est une cloche de 13 mm. de diamètre, surmontée d'un tube étroit, le « mesureur », d'une capacité de 5 cc. gradué en dixièmes de centimètre cube (un dixième de centimètre cube occupe une hauteur de 4 mm.). Il est facile d'apprécier le cinquième d'une division, soit 0 cc. 005. La cloche est munie d'un petit appendice en forme de poche.

La masse gazeuse, renfermant la quantité d'oxygène nécessaire à la combustion et dont le volume total ne

doit pas dépasser celui du mesureur, est transportée, sous l'eau, dans la microcloche. En raison du diamètre très petit (6 mm.) du mesureur, et de l'importance des phénomènes capillaires le gaz ne peut y pénétrer de lui-même. On est obligé de recourir à un artifice. Un fil de cuivre introduit sous l'eau dans la microcloche, jus-

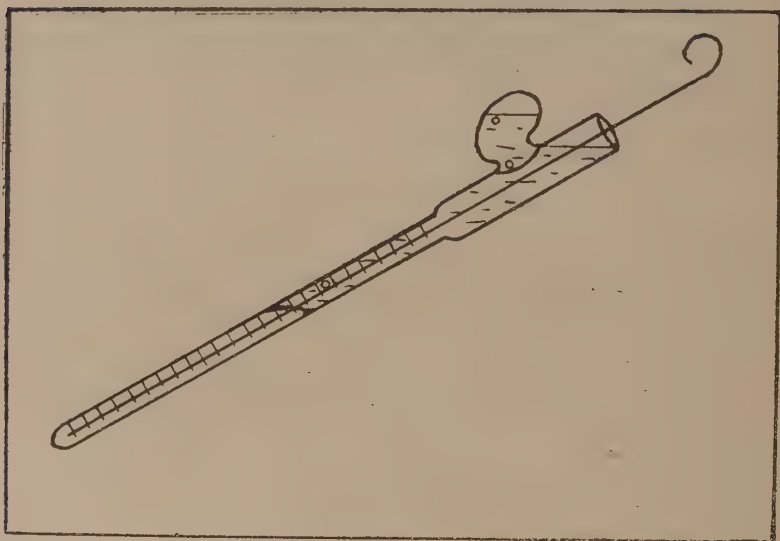


FIG. 6

qu'à son extrémité supérieure, sert de conducteur au gaz ; et par une série de mouvements de va et vient on réussit sans difficulté à le faire pénétrer bulle par bulle jusqu'au fond du mesureur.

On retire le fil, toujours sous l'eau, et on mesure le volume du gaz dans des conditions bien exactes de température et de pression.

Cette mesure effectuée on réintroduit le fil et en donnant à la microcloche placée dans l'eau une inclinaison convenable, on fait passer le gaz dans la partie large de l'appareil.

La poche de verre, dirigée vers le haut, capte les bulles gazeuses et les empêche de s'échapper accidentellement vers l'extérieur.

La microcloche est alors redressée, bouchée avec le doigt et adaptée sur le grisoumètre qui est plongé dans un grand récipient plein d'eau. On assure avec la vis de pression de l'appareil une coaptation bien hermétique et on porte au rouge la boucle de platine, maintenant incluse dans le gaz à grisoumétrer, à l'aide du courant fourni par un petit transformateur muni d'un rhéostat.

On maintient le courant pendant une demi-minute à une minute. Au cours de cette opération, l'oxyde de carbone brûle au contact du platine rouge en fixant de l'oxygène et en formant de l'acide carbonique.

La microcloche est alors retirée du grisoumètre ; on absorbe l'acide carbonique formé, on fait passer le gaz restant, par l'artifice du fil de cuivre, dans la partie étroite du mesureur et on lit le nouveau volume dans les mêmes conditions de température et de la pression que précédemment.

Calcul de la quantité de l'oxyde de carbone.

La relation $\text{CO} + 1/2 \text{O}^2 = \text{CO}^2$ montre qu'un volume d'oxyde de carbone fixe un demi-volume d'oxygène pour donner un volume d'acide carbonique. Cet acide carbonique disparaissant par absorption sur la potasse,

on voit que la grisoumétrie entraîne finalement une réduction d'un volume et demi par volume d'oxyde de carbone.

Si n est la différence entre la première et deuxième lecture sur le mesureur de Nicloux, le volume d'oxyde de carbone correspondant est $\frac{2n}{3}$; appelons U_0 ce volume réduit à 0° et à la pression 760 mm. de mercure.

Calcul de la masse du sang.

Supposons que l'absorption de la quantité de l'oxyde de carbone mise à la disposition de l'animal ait été totale.

Appelons V_0 cette quantité réduite à 0° et à 760 mm. de mercure. Réparti dans la masse sanguine, l'oxyde de carbone se chiffrait d'après l'analyse eudiométrique à U_0 pour 10 cc. de sang.

On a donc :
$$\frac{V_0}{M} = \frac{U_0}{10}$$

d'où :
$$M = \frac{V_0 \times 10}{U_0}$$

Voici à titre d'exemple une détermination concernant l'un de nos animaux en expérience :

Chien n° 54.

Poids — 6 kg.

Quantité de gaz extrait de 10 cc. de sang	5 cc.
Après absorption par la potasse	2 cc. 17
Volume de gaz + oxygène.	4 cc. 23
Volume après eudiométrie et absorption par KOH.	2 cc. 31
Contraction.	1 cc. 92
2/3 de contraction = CO =	1 cc. 28
Quantité de CO pur absorbé par l'animal :	
$60 \text{ cc.} \times 92 \% = 55 \text{ cc.}, 2$	

Calculs :

$$U_o = 1 \text{ cc.}, 28$$

$$M = \frac{V_o \times 10}{U_o} = \frac{55,2 \times 10}{1,28} = 431 \text{ cc.}$$

$$\frac{\text{Masse sanguine}}{\text{kilo}} = \frac{431 \text{ cc.}}{6} = 72 \text{ cc.} = 1/13,9$$

La marche des calculs que nous venons d'exposer n'est valable qu'autant que l'oxyde de carbone fourni à l'animal a bien été fixé *en totalité* sur les globules, autrement dit, qu'il ne reste plus d'oxyde de carbone, en quantité notable tout au moins, dans le ballon de caoutchouc en relation avec la trachée.

Dans le but de vérifier si cette condition est bien remplie, nous avons eu recours, ici encore, à la méthode minutieusement mise au point sur Nicloux et basée sur la décomposition de l'anhydride iodique avec mise en liberté d'une quantité d'iode proportionnelle à la quantité d'oxyde de carbone.

La figure 6 représente le dispositif que nous avons utilisé : A est un flacon laveur renfermant une solution de potasse et directement branché sur le ballon de caoutchouc. A la suite de ce flacon laveur se trouve deux tubes en U : le premier de ces tubes renferme des pastilles de potasse pour compléter l'absorption de l'acide carbonique, dans le second tube se trouvent des fragments de ponce sulfurique qui achève la dessiccation du gaz. Celui-ci parvient alors dans un autre tube en U, au fond duquel on a disposé sur une hauteur de quelques centimètres l'anhydride iodique en poudre. Ce tube est placé dans un bain de paraffine fondue qui permet de

porter sa température au voisinage de 130° . L'iode libéré sous l'influence de l'oxyde de carbone est recueilli dans un petit tube laveur renfermant 5 cc. d'une solution concentrée d'iodure de potassium à 40 p. 100. Le débit du gaz dans tout ce dispositif se fait bulle à bulle, réglé par l'aspiration d'une trompe d'eau. Il va sans dire qu'avant de faire passer sur l'anhydride iodique le contenu du ballon, on faisait une longue expérience à blanc

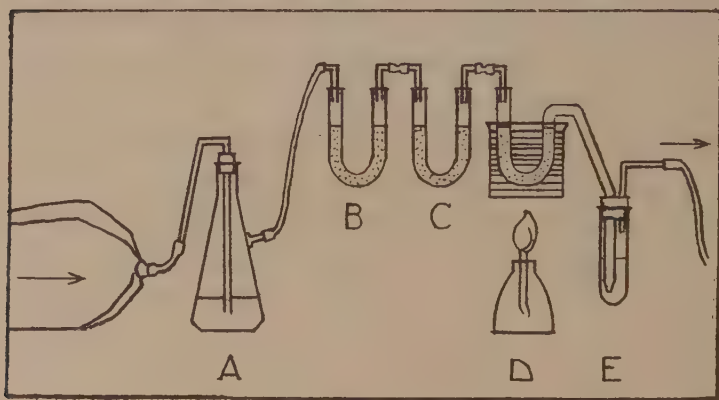


FIG. 6

de manière à débarrasser soigneusement l'appareil de toute trace de l'oxyde de carbone et de toute trace de vapeur d'iode.

L'expérience nous a montré qu'après avoir été branché sur l'animal, le ballon renfermait encore de petites quantités d'oxyde de carbone. Le passage de son contenu dans le dispositif à anhydride iodique provoquait en effet une légère coloration en jaune de la solution iodurée, indice d'une récolte d'iode.

On traitait cet iode à l'aide d'une solution d'hyposulfite de soude à 22 gr. 10 par litre ; 0 cc. 20 de cette solution correspond, tout calcul fait, à un centimètre cube d'oxyde de carbone.

Les quantités d'oxyde de carbone restant dans le ballon, c'est-à-dire non absorbé par l'animal, se sont presque toujours montrées négligeables (0 cc. 50, 0 cc. 90, 1 cc. 3). Lorsqu'elles atteignaient quelques centimètres cubes, nous en tenions compte en soustrayant ce résidu de la quantité d'oxyde de carbone primitivement introduite dans le ballon.

Résultats fournis par la méthode à l'oxyde de carbone.

Nos expériences portent sur 16 chiens, les résultats en sont consignés dans le tableau suivant :

TABEAU N° 9

Chiens N°	Poids en kg.	V. du sang tot. en cc.	V du sang tot. par kg. en cc.	Rapport du sang tot. au poids du corps
48	12	1307	109	1/9,1
54	9	1080	108	1/8,3
43	22 1/2	2406	106	1/9,3
42	28 1/2	2890	101	1/9 9
49	6	607	101	1/9,9
51	12	1208	100	1/10
45	11	1035	100	1/10
50	6	580	96	1/10,3
53	12	1568	95	1/10,4
55	11	975	88	1/11,2
39	10	860	86	1/11,6
47	6 1/2	561	86	1/11,6
56	12 1/2	1085	86	1/11,6
41	11	941	85	1/11,7
57	25	2056	82	1/12,1
52	8	423	70	1/14,3

Ces différentes expériences donnent une masse sanguine moyenne de 93 cc. 6 par kg. (Chiffres extrêmes 70 cc.-109 cc.), soit : 1/10,6 du poids corporel.

Cette valeur s'intercale entre celle que donne la méthode de lavage et celle que fournit le procédé au rouge Congo. Elle est toutefois beaucoup plus proche de la seconde que de la première, résultat qui de prime abord peut paraître surprenant étant donné que l'oxyde de carbone comme le lavage, donnent, l'un et l'autre, la masse du sang par l'intermédiaire de la masse globulaire. Mais nous avons vu plus haut les objections qu'on pouvait formuler à l'égard de la méthode du lavage.

L'accord entre la méthode à l'oxyde de carbone et la méthode au rouge Congo est par contre très satisfaisant, bien qu'il s'agisse dans le premier cas d'une *méthode globulaire* et dans le second d'une *méthode plasmatique*.

L'écart que nous avons trouvé entre les chiffres n'atteint pas 10 %. Sur certains animaux chez lesquels nous avons fait *simultanément* l'épreuve du rouge Congo et celle de l'oxyde de carbone, nous avons obtenu par les deux procédés des valeurs particulièrement voisines :

TABLEAU N° 10

Chiens N°	Poids en kg.	Méthode à l'oxyde de carbone			Méthode au rouge Congo		
		V. du sang tot. en cc.	V. du sang tot. par kg. en cc.	Rapport du sang tot. au poids du corps	V. du sang tot. en cc.	V. du sang tot. par kg. en cc.	Rapport du sang tot. au poids du corps
43	22 1/2	2406	106	1/9,3	2300	101	1/9,9
48	12	1307	109	1/9,1	1270	106	1/9,4
51	12	1208	100	1/10	1240	102	1/9,8
56	12 1/2	1085	86	1/11,6	1125	88	1/11,4

Cet accord est d'autant plus remarquable que l'inégale repartition des globules et du plasma dans les différents territoires vasculaires agit en sens opposé pour les deux méthodes.

Comme nous l'avons dit plus haut, la faible différence entre les chiffres donnés par la méthode de l'oxyde de carbone et celle du rouge Congo, différence de l'ordre des erreurs expérimentales, semble indiquer que le mélange des globules et du plasma est relativement intime dans la masse du sang circulant.

Il convient toutefois de signaler que l'accord entre les deux méthodes n'a pas été relevé par tous les auteurs et qu'en particulier Franck, Stanner, Auerbach trouvent avec l'oxyde de carbone une masse sanguine inférieure d'environ 20 % aux chiffres fournis par l'injection de rouge Congo.

VALEUR DE LA MÉTHODE AU ROUGE CONGO, COMME PROCÉDÉ DE DÉTERMINATION DE LA MASSE DU SANG

L'étude expérimentale que nous venons de développer nous semble justifier une certaine confiance dans la méthode du rouge Congo comme procédé de détermination de la masse sanguine.

Les résultats entre nos mains se sont montrés d'une concordance très satisfaisante avec ceux de la méthode à l'oxyde de carbone. Sans doute la précision n'est pas très grande, mais voisine cependant de 10 %, précision de même ordre que celle de la méthode à l'oxyde de carbone.

Pas plus que cette dernière, la méthode du rouge Congo n'est donc capable de mettre en évidence de fines variations de la masse sanguine.

L'examen du tableau de la page 36 montre en effet qu'elle ne permet pas de retrouver d'une façon suffisamment approchée quelques centaines de centimètres cubes retirés par saignée.

Elle paraît inférieure à la méthode réfractométrique pour ce qui est de dépister des échanges subits entre le plasma et les sérosités interstitielles.

Mais en tant que méthode absolue de détermination de la masse sanguine la méthode du rouge Congo mérite certainement d'être prise en considération.

Sa valeur est celle de la méthode à l'oxyde de carbone et elle a sur celle-ci l'avantage d'une simplicité plus grande et d'une innocuité absolue.

VALEUR DE LA MASSE DU SANG
SELON DIFFÉRENTS AUTEURS ET DIFFÉRENTES MÉTHODES
(D'après SEYDERHELM et LAMPE)

La masse du sang chez le chien

Auteurs	Méthodes	Masse du sang par kg. en cc.
Heindenbain, Gscheidlen et Spiegelberg, Stein- berg, Panum, Ranke, Jolyet et Lafont, Subbo- tin, Müller, Plesch, Smith et Arnold et Whipple, Brodin et Ri- chet, et Saint Girons.	La méthode de Welker (de lavage) et la m. de Welker modifiée	69
Plesch.	La méthode de CO	80
Smith, Arnold et Whipple.	—	61,5-116,8 86,9
Sherrington et Copeman.	La méthode de dilution sanguine (inj. de NaCl)	65
Plesch,	Hgb.	83
Vierordt	Saignée et numér. globulaire	85
Nelson.	Injection de sérum et numér. globul.	67,3-67,3 67,3
Harris.	Inj. de sol. de gomme et de NaCl CO-Hgb.	69,5
Meek et Gasser.	Inj. d'une sol. de gomme	92,3
Mc Quarrie et Davis.	Inj. d'une sol. de gomme (réfract.)	73-114 97,6
Hooper, Belt, Smith et Whipple.	Méth. des colorants (rouge vit. bril.)	83,7-114,5 101,3
Smith, Arnold et Whipple.	Méthode des col. (rouge vit. bril.)	89,9-123,3 103,9
Harris.	M. des colorants (rouge Congo)	72,5

Auteurs	Méthodes	Masse du sang par kg. en cc.
Brown et Keith.	M. des colorants (r. Congo)	88-103 95,5
—	(r. Vital)	87,0-96,5 91,8
Lee et Whipple.	M. des colorants (hemoglob.)	100,4-114,2 105,3
—	—	85,1-108,3 97,4
Franke et Benedikt.	—	70,5-109,0 90,0 env.
Valeur trouvée par nous- même.	M. des colorants (r. Congo)	51,1-152,5 100
	M. de CO	70-109 93,6
	M. de Lavage	41-99 77

La masse du sang chez l'homme

Auteurs	Méthodes	Masse du sang par kg. en cc.
Harvey, Hales, Keil.		
Haller.	Saignée à blanc	
Lehmann et Weber.	Lavage	119,0
Welcker.	Lavage Hgb.	70,5?
Bischoff.	—	71,0
Schücking.	—	103,0
Haldane et Smith.	Méthode de CO	45,7
Lor. Smith.	—	4,40-61,0 53,0
—	—	46,0
Oerum.	—	37,0-87,0 52,0
—	—	25,0-66,0 46,0
E. Muller.	—	66
Douglas.	—	71,7-79,8 75,8
Salvesen.	CO d'après V. Slyke et Salvesen	52,3-69,9 60,0
Fries.	Antitoxine	75,2

Auteurs	Méthodes	Masse du sang par kg, en cc.
Kämmerer et Waldmann.	—	92,4
Kottmann.	Inj. de NaCl (hematocr.).	72,5-82,1 77,7
Plesch.	Inj. de NaCl (Hgb.)	44,4-55,0 49,8
Lowy.	Inj. de glucose	48,0-55,0 51,5
Tarchanoff.	Hgb.	63,6-81,3 72,0
Keith, Geraghty et Rown- tree.	M. des colorants (r. vital)	78,5-99,0 85,0
Bock.	M. des colorants (r. bril. vit.)	76,0-91,0 82,0
Seyderhelm et Lampe.	M. des colorants (bleu trypan)	72,7-89,7 82,0
—	(rouge trypan)	75,2-89,2 83,0
Lucas et Dearing.	M. des colorants (r. bril. vit.)	107,0-195,0 146,0
—	—	90,0-126,0 109,0
Bakwin et Kirkin.	—	71,0-148,0 101,0
Greppi et Ratti.	M. des colorants (r. Congo)	60,0-80,0 env. 70,0
Kaboth.	—	49,4-72,2 58,9
Griesbach.	—	67,0
Herzfeld.	M. des colorants (r. Congo)	66,6-86,4 72,6
Neubauer.	—	67,6
Mendershausen.	—	49,4-103,0 71,8
Köch et Jakobovits.	—	44,3-89,1 57,3
Stark et Sonnenfeld.	—	50-53
Laquer.	—	53,2
Valeurs trouvées par nous- même.		68-103 88 (1) 63,2-95,7 81,8 (2)

(1) Sans correction.

(2) Avec la même correction que chez le chien (p. 28).

CONCLUSIONS

1. L'injection intra-veineuse de rouge Congo, proposée par Griesbach, fournit un procédé commode d'évaluation de la masse du sang.

Cette substance peut être introduite, en effet, dans les veines à la dose de 20 cc. d'une solution à 1 pour 200, chez l'homme, sans provoquer le moindre accident.

2. Le rouge Congo ne s'élimine que lentement du torrent circulatoire. Sa disparition progressive commence toutefois dès l'introduction, avant même que le mélange puisse être considéré comme parfait. Nous avons adopté comme moment du prélèvement sanguin en vue dosages quatre minutes et demi après la fin de l'injection.

3. Chez nos animaux en expérience, nous avons pu vérifier que le rouge Congo s'élimine beaucoup plus par la bile que par les urines.

D'autre part, dans les conditions où nous avons opéré, une partie du rouge Congo semble être retenue dans le culot globulaire.

La quantité de matière colorante, ainsi dissimulée, est de l'ordre de 7 %. Il convient d'en tenir compte pour corriger le chiffre de la masse sanguine totale.

4. Appliquée à des chiens de 4 à 30 kg., la méthode au rouge Congo nous a donné une masse de sang de 108 cc. en moyenne par kilogramme du poids.

En tenant compte de la cause d'erreur liée à la rétention du colorant dans le culot globulaire, le volume moyen du sang devient chez le chien 100 cc. par kilogramme, soit : 10 % ($1/10$ du poids du corps).

Chez l'homme nous avons trouvé 88 cc. par kilogramme de poids corporel, devenant 82 cc. par kg. ($1/13$ du poids du corps) si l'on adopte le même coefficient de correction que chez le chien.

5. Comparée aux autres procédés de détermination du volume sanguin, la méthode au rouge Congo nous a donné chez le chien des valeurs plus élevées que la méthode de lavage (77 cc. 2 par kg. du poids corporel), mais assez voisines de celles que nous avons obtenues par le procédé à l'oxyde de carbone (93 cc. par kg. du poids).

6. La méthode au rouge Congo est assez fidèle à elle-même. Deux déterminations pratiquées à une heure d'intervalle sur un chien anesthésié donnent des valeurs comparables.

Chez l'homme, la mesure de la masse sanguine à l'aide du rouge Congo, pratiquée à quelques jours de

distance, nous a donné des résultats d'une concordance satisfaisante.

7. La précision de la méthode au rouge Congo est de l'ordre de 10 %.

Cette méthode ne permet donc pas d'apprécier de petites fluctuations de la masse sanguine. En particulier en comparant les chiffres relevés avant et après la saignée, on ne retrouve pas exactement la quantité de sang qui a été soustraite. Pour apprécier des dilutions ou des concentrations sanguines subites, la méthode au rouge Congo paraît moins sensible que la méthode réfractométrique.

Néanmoins, en tant que procédé de mesure absolue de la masse sanguine, la méthode au rouge Congo nous a paru avoir la même valeur que celle à l'oxyde de carbone, tout en bénéficiant de conditions d'application plus simples et de l'absence de tout danger.

Chez l'homme, elle nous a permis de mettre en évidence une augmentation considérable de la masse du sang dans deux cas de polyglobulie.

Vu, le Doyen,

ROUSSY

Vu, le Président de la thèse

CARNOT.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

ADLER H. et REIMANN F. — Exploration du système réticulo-endothélial (*Zeitschr. f. d. ger. exp. Med.* t. XLVII, 1923).

ARNOLD H. R., CARRIER E. B., SMITH H. P. et WHIPPLE G. H. — Blood volume studies. The carbon monoxide method. Its accuracy and limitations (*Amer. Journ. of Physiol.*, t. LVI, p. 313, 1921).

ARTHAUD G. — Etude sur la variation de la masse du sang chez l'homme (*C. R. de l'Acad. des Sciences*, t. CXLIII, p. 782-783, 19 novembre 1906).

ASHBY W. — Volume du sang (*Arch. intern. Med.*, t. XXXV, p. 516, 632, 644, mai 1923).

ASHBY W. — Rapport entre le volume du sang, le taux des hématies et la réserve alcaline (*Arch. int. Med.*, t. XXXVI, p. 24, 1926).

BEHAL et VALEUR. — *Traité de chimie organique*, t. II, 1911.

VON BEHRING E. — Die Antitoxinmethode zur Blutmengenbestimmung (*Münch. med. Wochenschr.*, 1911, t. CVII, p. 655).

BENNHOLD H. — Amylose. Courbe d'élimination (*Deutsch. Arch. Klin. Med.*, t. CXLII, n° 5, 1923).

BISCHOFF L. W. — Bestimmung der Blutmenge bei einem Hingerichteten. (*Ztschr. f. Wissensch. Zool.*, 1856, t. VII, p. 331).

BRODIN P., SAINT-GIRONS F. et RICHET Ch. — Densité, hé-

maties, leucocytes et quantité du sang chez 47 chiens à l'état normal (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXI, p. 681, 6 juillet 1918).

CARDOT H. — Des variations de densité sanguine au cours des hémorragies (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 22 juin 1918, p. 837).

CIPRIANI C. et DOMINICI G. — Mesure de la masse totale du sang (*Arch. per le scienze med.*, 1927, n° 4).

DAWSON A. B., EVANS H. M. et WHIPPLE G. H. — Behavior of large series of Dyes introduced into the Circulation Blood (*The Amer. Journ. of Physiol.*, 1920, t. LI, p. 232).

DIERICK F. — L'épreuve de Adler et Reimänni (*Revue belge des sciences méd.*, t. I, n° 8, septembre-octobre 1929).

DOUGLAS G. — Méthode pour la détermination du volume du sang chez l'animal (*Journ. of the Amer. med. Assoc.* t. XXXIII, p. 493, 1906).

FLEISCHER C. et HANSEN. — Détermination du volume du sang chez l'homme (*Scand. Arch. Phys.*, t. LVI, p. 118, 308, mai 1929).

FRANK E., AUERBACH L. et STANNER E. — Détermination du volume du sang par la combinaison des méthodes par inhalation et par matières colorantes (*Klin. Wochenschr.*, t. XI, n° 48, novembre 1932).

FRIES H. — Über Veränderungen der Blutmenge in Schwangerschaft, Geburt und Wochenbett (*Ztschr. f. Geb. u. Gyn.*, 1911, t. CXIX, p. 340).

GOSIO R. — Sulla determinazione della massa del sangue. Valore clinico cell'applicazione del metodo del rosso-congo (*Policlinico Sez. med.* 1^{er} janvier 1929, p. 37).

GREHANT N. — Recherche de l'oxyde de carbone dans l'air confiné. Emploi du grisomètre pour le dosage de ce gaz (*Génie civil*, 1897, t. XXXI, p. 196).

GREHANT N. et QUINQUAUD E. — Mesure de sang contenu dans l'organisme d'un mammifère (*C. R. de l'Acad. des Sciences.* t. XCIV, p. 1450, 1882).

GREPPI et RATTI. — La determinazione della massa circo-

lante del sangue conin metodo del rosso-congo (in *Cuore e Circulaz.* 10, 1924).

GRIESBACH W. — Eine Klinisch-brauchbare Methode der Blutmengenbestimmung (*Deut. med. Wochensch.*, 1921, t. II, p. 1290).°

HALDANE F. et SMITH F. L. — La masse et la capacité d'oxygène du sang chez l'homme (*Journ. of Phys.*, t. XXV, p. 331, 1900)

HAMBURGER H. — Les méthodes de détermination de la quantité relative du plasma et de globules rouges (*Mediz. Klin*, 1921, n° 23).

HARRIS D.-T. — Valeur de la méthode au rouge-vital pour la mesure de la masse sanguine en clinique (*Brit. Journ. exp. Path*, t. I, p. 142 juin 1920).

HEILMEYER L. — Technic and advantages of Griesbach's spectrophotometric method with congo-red for determination of total quantity of circulating blood and its relation to blood colloids (*Biochem. Ztschr.*, 1929, t. CCXII, p. 430).

HOOPER C.-W., SMITH H.-P., BELT A. G. et WHIPPLE G.-H. — Experimental Control of a Dye Blood volum method (*The Amer. J. of Phys*, 1920, t. LI, p. 205).

IRMINÉ, MAC-QUARRIE NELSON C. et DAVIS. — Blood volume as determination by the Change in Retractivity of the serum non Protein Fraction after injection of Colloids in the Circulation (*The Amer. J. of Phys*, t. LI, p. 257, 1920).

JAVAL et BOYET. — Procédés de mesure de la masse sanguine : ses variations ; sa répartition ; rapport entre le plasma et les globules (*Paris médic.*, 1919, t. XXXIII, p. 45).

JOLLY J. et STINI J. — Masse totale du sang chez le rat blanc (*Soc. de Biol.*, 1905, t. LVII, p. 835).

KAMMEHER H. et WALDMAN A. — Blutmengenbestimmung nach von Behring und andere quantitativen Untersuchungen der Blutbestandteile (*D. Arch. f. Klin. Med.*, 1913, CIX, p. 524).

KAUFMANN. — Méthode simplifiée et perfect. de déter-

min-calorim. de la masse sanguine (*Klinische Wochenschrift*, t. IX, p. 1607, 1920).

KEITH N. H., ROWNTREE L. G., et GERAGHTY J. T. — A method for the determination of plasma and blood volume (*The Arch. of Intern. Med.*, t. XVI, 1915).

KOFFMANN K. — Über die Bestimmung der Blutmenge bei Mensch und Tier unter Anwendung eines neuen Präzisionshaematokriten (*Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1906, t. CIV, p. 356).

LAMSON P. D. et ROSENTHAL S. M. — L'inexactitude de nos méthodes actuelles de détermination du volume du sang (*Amer. J. of Phys.* t. LXIII, p. 358, 1923).

LEE F. W. et WHIPPLE G. H. — Blood volume studies. Plasma volume as determined by hemoglobin injection (*Amer. Journ. of Physiol.*, t. LVI, 4 mars, 1921).

LINDHARD I. — Méthode de coloration pour déterminer le volume du sang in vivo (*Am. J. of Phys.*, t. LXXVI, 1926).

MALASSEZ. — Nouveaux procédés pour apprécier la masse totale du sang (*Arch. de Phys.*, 1874, n° 6, p. 797).

MALASSEZ. — Recherches sur quelques variations que présente la masse totale du sang (*Arch. de Phys.*, 1875, n° 2-3, p. 261).

MALASSEZ. — De quelques variations de la richesse globulaire chez l'homme sain (*Soc. de Biol.*, oct. 1874, p. 138).

MALASSEZ. — Nouveau colorimètre destiné à la mesure du pouvoir colorant du sang (*Soc. de Biol.*, 28 oct. 1876).

MEER W. J. et GASSER H. S. — Blood volume. A method for its Determination with Data for Dogs, Cats and Rabbits (*Amer. Journ. of Physiol.* 1918-1919).

MENDERHAUSEN A. — Blutmengenbestimmung mit der Kongorotmethode (*Ztschr. für klin. Med.*, 1923, 97, H. 4-6).

MINZ B. — Über das Verhalten kolloidaler Stoffe im Blut (*Ztschr. für klin. Med.* 1930, p. 624).

MULLER. — Contribution à la méthode de détermination

de la masse totale du sang (*Arch. für Anat. u. Phys.*, 1901, p. 459-465).

NELSON, BARKER W et SUELL A. — The Congo red Test with special reference to excretion of the dye in the urine (*The Mayo Clinic*, 3 sept 1930).

NICLOUX M. — Eudiomètre pour de petites quantités de gaz. Applications (*Soc. de Biol.*, 1921, t. LXXXV, p. 118).

NICLOUX M. — Les lois d'absorption de CO par le sang in vivo et in vitro (*Journ. de Phys. et Path. exper.*, 1914, t. XVI, p. 145, 55, 64).

NICLOUX M. — L'oxyde de carbone et l'intoxication oxy-carbonique. 1925.

NICLOUX M. — Sur le dosage de l'oxyde de carbone dans l'air (*Bull. de la Soc. Chim. de France*, 1923, 4^e série, t. XXXIII, p. 818).

OERUM H. P. — Quantitative Blutuntersuchungen (*D. Arch. f. klin. Med.*, 1908, XCIII, p. 356).

OGIER J. et KOHN-ABREST E. — Traité de chimie toxicologique, 1924, v. 2.

PARINO A. — Di alcuni dettagli tecnici sulla determinazione del volume del sangue circolante eseguita con il metodo del rosso congo (*Diag. e tecn de lab.*, aug. 25, 1931, 2, p. 637).

RATTI. — Rassegna critica dei metodi per misurare la massa del sangue circolante (*Arch. par e clin. med.*, 4, 1, 1925).

ROWNTREE, BROWNET ROTH. — The volume of the blood and plasma (*Mayo Clin. Monogr.*, 1929).

RICHEL Ch, BRODIN P. et SAINT-GIRONS F. — De la densité du sang après les grandes hémorragies (*C. R. Acad. Sciences*, t. CLXVI, p. 587, 15 avr. 1918.)

RICHEL Ch. — Influence des injections intraveineuses de liquide isotonique sur la dissolution du sang et sur le nombre des hématies qui peuvent être perdues dans les hémorragies (*C. R. Acad. Sciences*, CLXVI, p. 661, 29 avril 1918).

REISS E. — Die refractometrische Blutuntersuchung und ihre Ergebnisse für die Physiologie und Pathologie des Menschen (*Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderh.*, 1913, Bd. 10, S. 531).

SALVESEN H. A. et van SLYKE D. — The determination of blood volume by carbon monoxyde method (*The Journ. of biolog Chemistry*, t. XL, p. 103, nov. 1919).

SEYDERHELM R. et LAMPE W. — Die Blutmengenbestimmung und ihre klinische Bedeutung (*Ergebn. der inn. Med. u. Kinderh.*, 27, 1925).

SMITH H. P. — Repeated determination of blood volume at short interwal by means of the dye method (*The Amer. Journ. of Physiol.*, t. LI, p. 221, 1920).

SMITH H. P. — The removal of Brilliant vital Red from the Blood Stream. Distribution of Dye between blood stream and Body tissu (*The Journ. of exper. Med.*; t. LI, 1930).

SMITH H. P., ARNOLD. H. R. et WHIPPLE. G. H. — Blood volume studies. Comparative values of the Welcker, carbon monoxyde, et dye methods for blood determination. Accurate estimation of absolute blood volume (*Amer. Journ. of Physiol.*, t. CVI, p. 336, 1921).

STEINBERG J. — Über die Bestimmung der absoluten Blutmenge (*Eflügers Arch. f. d. ges. Physiol.*, 1873, bd. 7, s. 101).

STEWART G. N. — Volume relatif du plasma et des globules dans le sang (*Amer. J. of Physiol.*, t. LXIX, p. 531, 1^{er} août 1924).

TARCHANOFF J. — Die Bestimmung der Blutmenge am lebenden Menschen (*Arch. f. Phys.*, 1880, XXIII, p. 548).

VAN SLYKE D. et ROBSCHT-ROBBINS F. — The gasometric determination of small amounts of carbon monoxyde in blood and its application to blood volume studies (*Journ. of biol Chem.*, t. LXXII, 1927, p. 39).

WALTER J., MEEK, HERBERT et GASSER (S). — Une méthode pour détermination de la masse sanguine (*C. R. de la Soc. Am. de Physiol.*, décembre 1917).

WELCKER H. — Bestimmungen der Menge des Körperblutes und der Blutfarbkraft, sowie Bestimmungen von Zahl, Maass, Oberfläche und Volumen des einzelnen Blutkörperchens beim Tier und beim Menschen (*Ztschr. f. rat. Med.*, 1858, IV, 145).

WENT S. et DRINKER C. — Une microméthode pour la détermination du volume absolu du sang avec données sur le volume du sang du cobaye, du rat blanc, du loysin et du chat (*Amer. Journ. of Physiol.*, t. LXXXVIII, p. 968, 1929).

ZUNTZ N. et PLESCH J. — Méthode pour la détermination de la masse du sang circulant chez l'animal vivant (*Biochem. Ztschr.*, t. XI, p. 47, 1908).

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
HISTORIQUE	11
Méthodes indirectes.....	12
Méthode colorimétrique.....	15
MÉTHODE AU ROUGE CONGO	19
Préparation de la solution	20
Application de la méthode chez le chien.....	22
Evaluation de la concentration du plasma en rouge Congo	23
Conduite des calculs	24
Application de la technique chez l'homme.....	26
Discussion des causes d'erreurs.....	26
Rétention du colorant dans le culot globulaire	27
Élimination du rouge Congo.....	28
Inégale répartition des globules et du plasma	33
Fidélité de la méthode.....	34
Valeur moyenne de la masse du sang.....	36
-COMPARAISON DE LA MÉTHODE AU ROUGE CONGO AVEC LES AUTRES PROCÉDÉS DE DÉTERMINATION DE LA MASSE SANGUINE.	42
Méthode du lavage	42
Méthode à l'oxyde de carbone.....	45
Préparation de l'oxyde de carbone.....	45
Administration de l'oxyde de carbone à l'animal	46
Dosage de l'oxyde de carbone dans le sang de l'ani- mal	46
1°) L'extraction de l'oxyde de carbone du sang ..	46
2°) Dosage du gaz extrait	49
Microcloche de Nicloux.....	49
Calcul de la quantité de l'oxyde de carbone ..	51
Calcul de la masse du sang	52
Résultats fournis par la méthode de l'oxyde de car- bone	55
VALEUR DE LA MÉTHODE AU ROUGE CONGO COMME PROCÉDÉ DE DÉTERMINATION DE LA MASSE DU SANG	58
VALEUR DE LA MASSE DU SANG SELON DIFFÉRENTS AUTEURS ET DIFFÉRENTES MÉTHODES.....	60
CONCLUSIONS	63
BIBLIOGRAPHIE	67

1934. Saint-Amand (Cher) -- Imprimerie A. CLERC



